

# Die hormonelle Regulation der Magnesium-Verteilung

Von TH. GÜNTHER und CH. ALTER

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Schütte)

(Eingegangen am 23. Mai 1966)

An männlichen Ratten untersuchten wir den Einfluß von Hypophysektomie, STH, Adrenalectomie, Aldosteron, Cortison, Methylthiouracil, Thyroxin, Parathyreoidectomie, Kastration, Testosteron, Östradiol und Progesteron auf die Verteilung des Mg in Muskel und Leber.

Nach Hypophysektomie ist der Mg-Gehalt nur im Muskel reduziert. Unter STH nimmt das Mg in Serum und Muskel zu, in der Leber ab. — Nach Adrenalectomie steigt der Mg-Gehalt in Serum, Leber und Muskel. Substitution mit Aldosteron verhindert das Ansteigen des Mg im Serum vollständig, in der Leber teilweise und im Muskel überhaupt nicht. Cortison hat keinen Einfluß auf die Mg-Konzentration im Serum. Im Muskel wurde der Mg-Gehalt normalisiert und in der Leber noch unter den Wert der Kontrolltiere gesenkt.

Nach Verfütterung von Methylthiouracil war der Mg-Gehalt in Serum, Leber und Muskel abgesunken, nach Injektion von Thyroxin angestiegen. — Entfernen der Epithelkörperchen senkte den Mg-Gehalt in Serum und Leber. — Von den getesteten Sexualhormonen erhöhten Testosteron und Progesteron die Serum-Mg-Konzentration, Testosteron und Östradiol den Mg-Gehalt im Muskel. Der Mg-Gehalt der Leber wurde durch Testosteron nicht beeinflusst und durch Östradiol und Progesteron gesenkt.

Die Mechanismen, die die Mg-Verteilung ändern können, und die Wirkung eines veränderten Mg-Gehaltes der Zellen auf ihren Stoffwechsel werden diskutiert.

The influence of hypophysectomy, STH, adrenalectomy, aldosterone, cortisone, methylthiouracil, thyroxine, parathyroidectomy, castration, testosterone, oestradiol and progesterone on the distribution of Mg in muscle and liver was studied in the male rat.

After hypophysectomy, the Mg level was decreased only in muscle. With STH, the Mg-level was increased in serum and muscle, but decreased in liver. — After adrenalectomy, the Mg-level in serum, liver and muscle was increased. The increase of Mg was inhibited completely in serum, partly in liver and not at all in muscle by the administration of aldosterone. Cortisone had no influence on the Mg-concentration in serum; the muscle-Mg was normalised, and the liver-Mg was depressed below that of control animals. — The Mg-level of serum, liver and muscle was decreased after feeding methylthiouracil, and increased after the injection of thyroxine. — Parathyroidectomy decreased the level of Mg in the serum and liver. — Of the tested sex hormones, testosterone and progesterone increased the concentration of serum-Mg; testosterone and oestradiol increased the Mg level in muscle. Liver-Mg was not influenced by testosterone, but it was decreased by oestradiol and progesterone.

Mechanisms for the alteration of the Mg-distribution, and the effect of a changed Mg-content on cell metabolism are discussed.

Wir haben in früheren Mitteilungen die Einflüsse von Hormonen auf die Na-, K-, Cl- und H<sub>2</sub>O-Verteilung in Leber und Muskel untersucht und gezeigt, daß Hormone die im allgemeinen auf bestimmte Gewebe bzw. Organe einwirken, auch andere Körperzellen beeinflussen (1, 2, 3). In der vorliegenden Arbeit wurden diese Untersuchungen auf das Verhalten des Magnesiums ausgedehnt.

Mg ist nach K das häufigste intrazelluläre Kation. Es ist unentbehrlicher Aktivator für zahlreiche Enzyme. Bisher sind mehr als 100 Mg-abhängige Enzyme bekannt. Mg liegt in der Zelle größtenteils als Komplex vor, nur 10–20% des Gesamt-Mg sind ionisiert. Die intrazelluläre Mg<sup>2+</sup>-Konzentration hat mit 1,5–3 mMol ein Niveau, bei dem die meisten Mg-abhängigen Enzyme halbmaximal bis maximal aktiviert sind (4). Änderungen im Gesamt-Mg-Bestand der Zelle könnten daher die intrazelluläre Mg<sup>2+</sup>-Konzentration beeinflussen und somit den Ablauf von Stoffwechselreaktionen verändern. Die vorliegende Arbeit berichtet deshalb über Änderungen des zellulären Mg-Bestandes unter verschiedenen hormonellen Bedingungen.

## Methodik

Für die Versuche verwendeten wir etwa gleich alte männliche Albinoratten, die Standardpreßfutter und Leitungswasser erhielten.

### Aufarbeitung der Tiere und Bestimmungsmethoden

Die Ratten wurden durch Genickschlag getötet. Sofort danach wurde aus dem noch schlagenden Herzen mit Kapillaren Blut für die Bestimmungen im Serum entnommen. Die Kapillaren wurden abgeschmolzen und zur Serumgewinnung zentrifugiert. Leber und identische Muskelstücke wurden herauspräpariert, von Blut und Bindegewebe befreit, in flüssiger Luft eingefroren und im Vakuum-Exsikkator über Silikagel gefriergetrocknet.

### Bestimmung des Wassergehaltes

Aus der Gewichts Differenz vor und nach Gefriertrocknung.

### Bestimmung des Proteingehaltes im Serum

In 0,1 ml Serum wurde der Eiweißgehalt mit Biuretreaktion nach WEICHELBAUM bestimmt (5).

### Bestimmung der Magnesium-Konzentration im Serum

Je 0,2 ml Serum wurden mit 0,2 ml aqua bidest. verdünnt (ge-eichte Blutzuckerpipette) und mit 2 ml 10-proz. Trichloressigsäure („TCE“) enteiweißt. In 2 ml des TCE-Extraktes wurde Mg nach ORANGE und RHEIN (6) bestimmt.

### Bestimmung des Magnesiums in gefriergetrockneten Organen

Etwa 10 mg Trockensubstanz wurden mit 5 ml 10-proz. TCE 24 Stdn. im Eisschrank unter mehrmaligem Umrühren in Zentrifugengläsern extrahiert. In 2 ml TCE-Extrakt wurde Mg nach ORANGE und RHEIN (6) bestimmt. Veraschung und TCE-Extraktion ergaben, wie Vorversuche zeigten, identische Werte.

### Bestimmung der EZF

Die Größe der EZF der meisten Versuchsgruppen wurde in früheren Versuchen bestimmt, in denen die Tiere in gleicher Weise vorbehandelt wurden (1, 2, 3). Die EZF der restlichen Versuchsgruppen wurde, wie früher beschrieben (2), ermittelt.

### Berechnung der Versuchsergebnisse

#### Umrechnung in Frischgewicht (FG)

$$FG = \frac{TG (100 - H_2O)}{100} \text{ [mMol/kg]}$$

FG = Mg-Gehalt bezogen auf Frischgewicht  
TG = Mg-Gehalt bezogen auf Trockengewicht  
H<sub>2</sub>O = Wassergehalt in %

### Berechnung des extrazellulären Mg

$$[Mg]_{EZF} = [Mg]_{ev} \cdot 0,75 \cdot EZF + [Mg]_{ser} \cdot 0,25 \cdot EZF$$

EZF = Größe der EZF in l/kg

[Mg]<sub>EZF</sub> = extrazelluläres Mg

[Mg]<sub>ev</sub> = Mg-Konzentration im extravasalen Raum

[Mg]<sub>ser</sub> = Mg-Konzentration im Serum

Es wird vorausgesetzt, daß das Verhältnis extravasal/intravasal = 3:1 ist und bei allen Versuchsserien gleich ist.

Die Mg-Konzentration im extravasalen Raum wurde aus einem Diagramm von WILLIS und Mitarbeitern (7) unter Berücksichtigung des Eiweißgehaltes im Serum abgelesen. Dabei wird angenommen, daß das extravasale Mg ein Ultrafiltrat des intravasalen ist.

Eine Fehlerbetrachtung, bei der die Fehler der Magnesium-, der Protein- und EZF-Bestimmung sowie die Unsicherheit über das Verhältnis des intra- und extravasalen Anteils der EZF sowie die Unkenntnis des genauen Proteingehaltes der extravasalen Flüssigkeit berücksichtigt wurden, ergibt einen Gesamtfehler des extrazellulären Magnesiums von  $\pm 15\%$ . Dies ist bedeutungslos, wenn man bedenkt, daß der extrazelluläre Anteil des Magnesiums im Gewebe nur 1% des Gesamtbestandes ausmacht.

#### Berechnung des intrazellulären Magnesiums

Der intrazelluläre Anteil ergibt sich nach folgender Formel:

$$[\text{Mg}]_{\text{IZF}} = \frac{[\text{Mg}]_{\text{ges.}} - [\text{Mg}]_{\text{EZF}}}{1 - \text{EZF}}$$

$[\text{Mg}]_{\text{IZF}}$  = Mg in der intrazellulären Flüssigkeit (mmol/kg)

$[\text{Mg}]_{\text{ges.}}$  = Gesamtgehalt an Mg bezogen auf 1 kg FG

$[\text{Mg}]_{\text{EZF}}$  = extrazelluläres Mg in 1 kg FG

EZF = Größe der EZF in l/kg FG

#### Fehlerrechnung

Der mittlere absolute Fehler des Mittelwertes ( $f$ ) wurde berechnet nach:

$$f = \pm \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{n(n-1)}}$$

$\bar{x}$  = Mittelwert  $x_i$  = Einzelwert  $n$  = Anzahl der Tiere

#### Fehlerfortpflanzung

Ein Teil der Ergebnisse kann nicht direkt gemessen werden, sondern muß aus anderen Messungen, die einen bestimmten Fehler haben, errechnet werden. Die Fehler der Meßgrößen gehen in den Fehler ( $f_e$ ) der errechneten Größe ein.

$$f_e = \pm \sqrt{f_1^2 + f_2^2 + f_3^2 \dots}$$

$f_e$  = fortgeleiteter Fehler

$f_1, f_2 \dots$  = Fehler der einzelnen Messungen

Bei Addition und Subtraktion muß für  $f_1$  der absolute Fehler, bei Multiplikation und Division der relative Fehler eingesetzt werden.

#### Signifikanz

Die Signifikanz wurde nach folgender Formel abgeschätzt:

#### Vorbehandlung der einzelnen Versuchsgruppen

Nr.	Tiergruppe und Vorbehandlung	Zahl der Tiere	Gewicht beim Töten in g	Mittelwert in g
I.	<i>Normale Ratten:</i> Keine Vorbehandlung	6	260—360	300
II.	<i>Adrenaletomierte Ratten:</i> Beide Nebennieren wurden transabdominell in Äthernarkose entfernt. Die Tiere wurden am 6. und 7. Tag nach der Operation getötet.	7	215—315	253
III.	<i>Adrenaletomierte Ratten + Aldosteron:</i> Adrenaletomie wie bei II. Die Tiere erhielten sofort nach der Operation und dann täglich, insgesamt 7 Tage lang, 5 $\gamma$ d-l-Aldosteronacetat <sup>2)</sup> , das in 0,2 ml 0,9-proz. NaCl-Lösung suspendiert war, s. c. injiziert.	6	225—300	249
IV.	<i>Adrenaletomierte Ratten + Cortison:</i> Adrenaletomie wie bei II. Sofort nach der Adrenaletomie wurde den Tieren 8 mg Cortisonacetat <sup>2)</sup> , in 0,1 ml Olivenöl suspendiert, s. c. injiziert. Die Cortisoninjektionen erfolgten wie bei der Substitution mit Aldosteron täglich einmal insgesamt 7 Tage lang.	7	195—225	210
V.	<i>Hypophysektomierte Ratten:</i> Die Hypophyse wurde in Äthernarkose entfernt. Es wurde vom Hals her am Kehlkopf entlang die Schädelbasis freipräpariert (Trachea intubiert). Die Schädelbasis wurde mit einer Zahnbohrmaschine aufgebohrt und die Hypophyse mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. 5 Wochen nach der Operation wurden die Tiere getötet.	4	215—295	246
VI.	<i>Normale Tiere + Wachstumshormon:</i> Die Ratten erhielten 14 Tage lang täglich 0,7 mg Rinder-Hypophysen-Wachstumshormon (STH) <sup>1)</sup> s. c. injiziert. Es wurde zunächst eine 1-proz. Suspension des Hormons in 0,9-proz. NaCl hergestellt. Nach Zugabe von etwa 0,05 ml 0,1N NaOH erhält man eine klare Lösung, diese wurde im Verhältnis 1:3 mit 0,9-proz. NaCl verdünnt. Hiervon wurden täglich 0,2 ml s. c. injiziert. Jeden 3. Tag wurde neue Hormonlösung bereitet. Die Lösung wurde bei 4° aufbewahrt.	7	255—275	267
VII.	<i>Normale Tiere + Thyroxin:</i> 6 Ratten wurde d-l-Thyroxin (Roche) s. c. injiziert, 1 Ratte verstarb am 10. Tag. Dosierungsschema: Am 1., 3. und 4. Tag je 4 mg, am 5., 6. und 10. Tag je 2 mg; am 13., 14. und 17. Tag je 1 mg. Die Ratten wurden am 18. Tag getötet, nachdem jede 21 mg Thyroxin erhalten hatte.	5	160—205	183
VIII.	<i>Normale Tiere + Methylthiouracil:</i> Da bei Ratten die Schilddrüse operativ nicht isoliert ausgeschaltet werden kann, wurde dem Futter der Tiere 10 Wochen lang Methylthiouracil beigemischt, und zwar in folgender Konzentration: 2 Wochen 0,1% d. Trockengew.; 4 Wochen 0,3% d. Trockengew.; 2 Wochen 0,2% d. Trockengew.; 2 Wochen 0,15% d. Trockengew. Durchschnittlicher Gewichtsverlust: etwa 30 g/Tier.	7	170—215	194
IX.	<i>Parathyreoidektomierte Tiere:</i> In Äthernarkose wurden beide Epithelkörperchen entfernt. 7 Wochen später wurden die Tiere getötet. Zur Kontrolle wurde die Calcium-Konzentration im Serum bestimmt. Sie war bei allen Tieren erniedrigt und betrug im Mittel 1,30 mmol/l.	7	260—320	284
X.	<i>Orchektomie:</i> 6 männlichen Ratten (Gewicht 110 g) wurden in Äthernarkose beide Hoden entfernt. 3 Monate nach der Operation wurden die Tiere getötet.	6	230—295	261
XI.	<i>Normale Tiere + Testosteron:</i> Jede Ratte erhielt am 1. Tag 7,5 mg, am 4. Tag 5 mg und am 8. Tag 5 mg Testosteronpropionat s. c. <sup>2)</sup> Am 14. Tag wurden die Tiere getötet.	6	240—300	264
XII.	<i>Normale männliche Tiere + Östradiol:</i> Pro Tier wurden 25 mg Östradiol-valerianat <sup>2)</sup> in 1 ml Olivenöl s. c. injiziert. 5 Tage später wurden die Ratten getötet.	6	240—270	252
XIII.	<i>Normale, männliche Tiere + Progesteron:</i> Es wurden pro Ratte 50 mg Progesteron <sup>2)</sup> in 2 ml Olivenöl s. c. injiziert und die Tiere 5 Tage später getötet.	6	260—310	281

<sup>1)</sup> Wir danken Dr. E. WILHELM, National Institute of Health, Endocrinol. Section, Bethesda, Md., für die großzügige Überlassung des gereinigten STH (NIH-GH-B<sub>5</sub>).

<sup>2)</sup> Präparate der Fa. Schering, Berlin

<sup>3)</sup> Präparat der Fa. Ciba, Basel.

Für die freundliche Überlassung der Präparate sei beiden Firmen gedankt.

$$t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{f_1^2 + f_2^2}}$$

$m_1, m_2$  = Mittelwerte zweier Versuchsserien  
 $f_1, f_2$  = mittlerer, absoluter Fehler von  $m_1$  bzw  $m_2$

Die den Werten von  $t$  entsprechende Signifikanz  $P$  kann aus den Tabellen von FISHER (8) abgelesen werden. Unter den gewählten Versuchsbedingungen (6–7 Tiere/Versuchsserie) soll eine Differenz zwischen zwei Versuchsserien signifikant sein, wenn  $t > 2$  ( $P < 0,05$ ) ist.

## Ergebnisse

### Hypophyse

Entfernen der Hypophyse hat keinen signifikanten Einfluß auf die Mg-Konzentration im Serum. Injiziert man dagegen normalen Ratten zusätzlich 14 Tage lang Rinderhypophysen-Wachstumshormon (STH), das bei Ratten keine Antikörper erzeugt (9), so sinkt die Mg-Serumkonzentration auf 0,88 mMol (Tab. 1). Das gleiche fanden HANNA und Mitarbeiter am Menschen (10). Nach Injektion von 5 mg bzw. 10 mg STH sank die Mg-Konzentration im Serum um etwa 0,2 mMol. Umgekehrt stieg die bei acromegalen Patienten erniedrigte Mg-Konzentration nach Ausschaltung der Hypophyse wieder an.

Nach Hypophysektomie fanden wir in der Leber keine Änderung des intrazellulären Mg-Gehaltes, im Muskel verringerte er sich. Nach Gabe von STH an normale Ratten nahm der Mg-Bestand in der Leber ab und im Muskel zu (Tab. 2, 3).

Die Abnahme des Mg-Gehaltes in der Muskulatur nach Hypophysektomie könnte durch das Fehlen des STH bedingt sein. Umgekehrt, wenn STH zusätzlich gegeben wird, steigt der Mg-Gehalt in der Muskulatur. Da STH zu einer Steigerung des aktiven Transportes von Aminosäuren (11) und Glukose (12) führt, könnte die durch STH bewirkte Mg-Zunahme in der Muskulatur analog ebenfalls durch eine (noch zu beweisende) Steigerung des aktiven Mg-Transportes zustande kommen. Die Abnahme des Mg-Gehaltes in der Leber nach Zufuhr von STH könnte eine Folge der Abnahme der Mg-Konzentration im Serum sein.

Bei Bilanzversuchen (10) bewirkte STH eine vermehrte Resorption von Mg im Darm und eine erhöhte Mg-Ausscheidung durch die Niere. Dieses Ergebnis wird verständlich, wenn man wiederum annimmt, daß STH den Mg-Transport erhöht. Bei ungenügender Mg-Zufuhr mit der Nahrung könnte STH deswegen zu einer negativen Mg-Bilanz und vielleicht auch über diesen Weg zu einer Verminderung der Serum-Mg-Konzentration führen.

Tab. 1. Serumproteinkonzentration, Mg-Konzentration im Serum und Ultrafiltrat des Serums (Bestimmung s. Methode) sowie Menge der extrazellulären Flüssigkeit (EZF) und Wassergehalt in Lebern und Muskeln bei verschiedenen Tiergruppen

Tiergruppe	Serumprotein [%]	[Mg] in mMol/l		EZF in %		Wassergehalt in %	
		Serum	Ultr.	Leber	Muskel	Leber	Muskel
Normale Tiere	7,77 ± 0,47	0,99 ± 0,04	0,67	19,2 ± 1,0	9,4 ± 0,6	68,97 ± 0,35	74,10 ± 0,29
Hypophysektomierte Tiere	7,39 ± 0,30	1,00 ± 0,01	0,68	18,4 ± 1,6	10,9 ± 0,7	68,80 ± 0,50	73,77 ± 0,05
Normale Tiere + STH	6,52 ± 0,19	0,88 ± 0,04	0,61	19,2 ± 1,0	10,8 ± 0,2	69,20 ± 0,27	74,37 ± 0,10
Adrenaletomierte Tiere	6,27 ± 0,29	1,17 ± 0,03	0,85	15,9 ± 0,8	9,9 ± 1,1	72,00 ± 0,16	74,44 ± 0,24
Adrenalet. Tiere + Aldosteron	7,05 ± 0,23	0,96 ± 0,03	0,68	17,0 ± 0,5	11,9 ± 0,4	71,10 ± 0,30	74,20 ± 0,20
Adrenalet. Tiere + Cortison	6,60 ± 0,07	1,23 ± 0,03	0,88	17,0 ± 0,6	10,0 ± 0,7	68,06 ± 0,29	73,33 ± 0,17
Normale Tiere + Methylthiourac.	7,54 ± 0,43	0,71 ± 0,02	0,47	18,6 ± 0,7	16,2 ± 0,5	68,74 ± 0,22	74,58 ± 0,25
Normale Tiere + Thyroxin	6,60 ± 0,13	1,25 ± 0,02	0,89	25,4 ± 1,2	10,4 ± 0,4	69,15 ± 0,19	72,41 ± 0,10
Parathyreoidektomierte Tiere	6,84 ± 0,33	0,90 ± 0,03	0,62	17,6 ± 0,3	10,3 ± 1,2	67,74 ± 0,19	74,21 ± 0,15
Kastrierte Tiere	7,97 ± 0,20	1,18 ± 0,03	0,79	17,7 ± 0,6	10,3 ± 2,8	68,26 ± 0,28	74,20 ± 0,38
Normale Tiere + Testosteron	7,93 ± 0,30	1,23 ± 0,04	0,81	24,7 ± 1,3	14,9 ± 0,5	69,62 ± 0,39	74,96 ± 0,25
Normale Tiere + Östradiol	7,05 ± 0,11	1,00 ± 0,02	0,70	17,2 ± 0,2	9,6 ± 0,1	68,65 ± 0,20	74,50 ± 0,03
Normale Tiere + Progesteron	5,90 ± 0,08	1,11 ± 0,02	0,80	16,8 ± 0,3	8,1 ± 0,2	68,20 ± 0,16	74,70 ± 0,11

Tab. 2. MG-Gehalt in den Lebern der einzelnen Versuchsgruppen bezogen auf kg Trockengewicht (T.G.) und kg Feuchtgewicht (F.G.) sowie extrazellulärer MG-Bestand in mMol/kg FG (EZ) und intrazellulärer Mg-Gehalt in mMol/kg Zellen (IZ) (Berechnung s. Methode)

Tiergruppe	T. G.	Magnesium-Gehalte in mMol/kg		IZ
		F. G.	EZ	
Leber				
Normale Tiere	30,61 ± 0,52	9,50 ± 0,19	0,144 ± 0,02	11,58 ± 0,15
Hypophysektomierte Tiere	30,00 ± 0,52	9,36 ± 0,24	0,153 ± 0,02	11,24 ± 0,22
Normale Tiere + STH	27,94 ± 0,51	8,61 ± 0,17	0,130 ± 0,02	10,50 ± 0,20
Adrenaletomierte Tiere	37,27 ± 0,68	10,45 ± 0,20	0,147 ± 0,02	12,25 ± 0,27
Adrenalet. Tiere + Aldosteron	33,30 ± 0,66	9,62 ± 0,22	0,126 ± 0,02	11,44 ± 0,27
Adrenalet. Tiere + Cortison	25,81 ± 0,37	8,25 ± 0,14	0,164 ± 0,03	9,74 ± 0,19
Normale Tiere + Methylthiourac.	27,23 ± 0,29	8,51 ± 0,11	0,098 ± 0,01	10,34 ± 0,16
Normale Tiere + Thyroxin	35,46 ± 0,39	10,94 ± 0,14	0,249 ± 0,03	14,34 ± 0,29
Parathyreoidektomierte Tiere	27,41 ± 0,34	8,84 ± 0,12	0,121 ± 0,02	10,57 ± 0,15
Orchektomierte Tiere	29,12 ± 0,16	9,25 ± 0,10	0,157 ± 0,02	11,05 ± 0,14
Normale Tiere + Testosteron	30,57 ± 0,26	9,28 ± 0,12	0,226 ± 0,03	12,02 ± 0,17
Normale Tiere + Östradiol	28,02 ± 0,27	8,79 ± 0,10	0,134 ± 0,02	10,45 ± 0,12
Normale Tiere + Progesteron	28,30 ± 0,25	9,00 ± 0,09	0,148 ± 0,02	10,65 ± 0,12

Tab. 3. MG-Gehalt in der Muskulatur der einzelnen Versuchsgruppen (s. u. Tab. 2)

Tiergruppe	T. G.	Magnesium-Gehalte in mMol/kg		IZ
		F. G.	EZ	
Muskel				
Normale Tiere	42,71 ± 0,57	11,07 ± 0,19	0,071 ± 0,01	12,14 ± 0,20
Hypophysektomierte Tiere	40,05 ± 0,83	10,51 ± 0,22	0,098 ± 0,01	11,59 ± 0,19
Normale Tiere + STH	44,92 ± 0,31	11,52 ± 0,09	0,073 ± 0,01	12,84 ± 0,21
Adrenaletomierte Tiere	47,16 ± 0,53	12,06 ± 0,13	0,092 ± 0,01	13,29 ± 0,25
Adrenalet. Tiere + Aldosteron	46,37 ± 0,30	11,95 ± 0,12	0,089 ± 0,01	13,47 ± 0,15
Adrenalet. Tiere + Cortison	42,06 ± 0,63	11,21 ± 0,18	0,097 ± 0,01	12,36 ± 0,20
Normale Tiere + Methylthiourac.	36,58 ± 0,50	9,30 ± 0,16	0,085 ± 0,01	11,00 ± 0,20
Normale Tiere + Thyroxin	46,88 ± 0,63	12,94 ± 0,18	0,102 ± 0,01	14,33 ± 0,21
Parathyreoidektomierte Tiere	41,25 ± 0,45	10,63 ± 0,13	0,071 ± 0,01	11,78 ± 0,21
Orchektomierte Tiere	42,79 ± 0,69	11,04 ± 0,24	0,091 ± 0,01	12,21 ± 0,46
Normale Tiere + Testosteron	46,36 ± 0,37	11,61 ± 0,15	0,141 ± 0,02	13,49 ± 0,20
Normale Tiere + Östradiol	45,20 ± 0,80	11,53 ± 0,21	0,075 ± 0,01	12,67 ± 0,23
Normale Tiere + Progesteron	43,40 ± 0,18	10,98 ± 0,07	0,070 ± 0,01	11,88 ± 0,08

### Nebennierenrinde

Nach Entfernung beider Nebennieren stieg bei Ratten die Mg-Konzentration im Serum von 0,99 mMol auf 1,17 mMol an (Tab. 1). Bei nebennierenlosen Hunden fanden SWINGLE und Mitarbeiter (13) eine noch stärkere Zunahme der Mg-Konzentration von etwa 1 mMol auf 1,5–2,0 mMol. Eine Zunahme der Mg-Konzentration im Serum nach Adrenalectomie beobachteten außerdem CONWAY und Mitarbeiter (14) an Ratten, HARROP und Mitarbeiter (15) bei Hunden und ZWEMER und Mitarbeiter (16) bei Katzen. Injiziert man adrenalectomierten Ratten sofort nach der Operation täglich 5 µg Aldosteron, so läßt sich das Ansteigen der Mg-Konzentration im Serum verhindern (Tab. 1). Ähnlich konnte SWINGLE (13) die bei nebenniereninsuffizienten Hunden erhöhte Mg-Konzentration im Serum durch Injektion von Aldosteron wieder senken. Analog war bei einem Patienten mit erhöhter Produktion von Mineralocorticoiden die Mg-Konzentration im Serum erniedrigt (17). Gibt man Ratten sofort nach der Adrenalectomie täglich 8 mg Cortison, so kommt es wie nach alleiniger Adrenalectomie zu einer Zunahme der Mg-Konzentration im Serum (Tab. 1). Mg verhält sich also im Serum qualitativ wie K. Es bestehen jedoch quantitative Unterschiede. Durch Aldosteron sank die bei nebennierenlosen Hunden ebenfalls erhöhte K-Konzentration schneller als die Mg-Konzentration (13).

Im Gewebe fanden wir nach Adrenalectomie in Leber und Muskulatur eine Zunahme des Mg-Gehaltes. Das gleiche Ergebnis erhielten auch HINGERTY (18) und HANNA und Mitarbeiter (10) am Muskel.

Die Zunahme des Mg-Gehaltes im Serum und Gewebe nach Adrenalectomie könnte durch eine verminderte Ausscheidung des Mg zustande kommen (19). Die erhöhte Mg-Konzentration im Serum kann dann zu einer erhöhten Mg-Aufnahme in die Zellen führen.

Nach Substitution mit Aldosteron fanden wir den Mg-Gehalt in der Leber niedriger als bei adrenalectomierten Tieren, aber noch höher als bei normalen Ratten, im Muskel war gegenüber adrenalectomierten Ratten kein Unterschied festzustellen. Aldosteron kann demnach die Folgen der Adrenalectomie hinsichtlich des Mg-Gehaltes im Serum vollständig, im Gewebe aber nur teilweise normalisieren.

Die Abnahme des Mg aus der Leber adrenalectomierter Tiere unter Aldosteron läßt sich durch eine Verstärkung der Mg-Ausscheidung durch Aldosteron erklären (19). Neben dieser renalen Wirkung scheint Aldosteron noch die Mg-Aufnahme durch die Zellmembran zu hemmen (20), was ebenfalls zu einer Abnahme des zellulären Mg-Gehaltes führen kann.

Nach Substitution mit Cortison dagegen war der Mg-Gehalt in der Leber erheblich geringer als bei Normaltieren. Im Muskel konnten wir keine signifikante Abnahme feststellen. Die Ursache, weshalb die Änderungen des Mg-Stoffwechsels an der Muskulatur nicht zum Ausdruck kommen, könnte darauf beruhen, daß im Muskel nur ein geringer Teil des Mg austauschbar ist, während z. B. in der Leber der Mg-Bestand vollständig und schnell ausgetauscht wird (21), der Umsatz in der Leber also wesentlich schneller erfolgt.

Der Mg-Gehalt in der Leber nimmt unter Cortison ab, obwohl die extrazelluläre Mg-Konzentration erhöht ist. Diese Abnahme des Mg-Gehaltes beruht wahrscheinlich auf einer Abnahme des Mg-Komplexbildners ATP, bedingt durch Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung, welche bei hohen Cortisondosen (täglich 5 mg / Ratte, 7 Tage lang) erfolgt (22).

HINGERTY (18) interpretierte die Nebenniereninsuffizienz an Hand der dabei auftretenden Änderungen der Mg-Verteilung. Danach soll die Erhöhung der extrazellulären Mg-Konzentration zu einer Erhöhung der intrazellulären Mg-Ionenkonzentration führen. Die erhöhte intrazelluläre Mg-Ionenkonzentration soll die Aktivität Mg-abhängiger Enzyme derart beeinflussen, daß die Symptome der Nebenniereninsuffizienz resultieren, u. a. eine Erhöhung der ATP-Konzentration, obwohl durch Adrenalectomie der P/O-Quotient nicht verändert wird (23). Diese Vorstellung ist wahrscheinlich zu einfach. Es ist unwahrscheinlich, daß durch die geringe Erhöhung der extrazellulären Mg-Konzentration eine ausreichende Änderung des intrazellulären pMg, der die Aktivität Mg-abhängiger Enzyme (bei Sättigung mit den anderen Komponenten) bestimmt, hervorgerufen wird (4). Außerdem müßten dann andere Zustände mit gleicher, erhöhter Mg-Konzentration die Erscheinungen der Nebenniereninsuffizienz erzeugen.

### Schilddrüse

Werden Ratten hypothyreoid gemacht, indem man ihnen 10 Wochen lang Methylthiouracil-haltiges Futter gibt, dann sinkt die Mg-Konzentration im Serum von 0,99 mMol auf 0,70 mMol ab (Tab. 1). Injiziert man Ratten 2½ Wochen lang Thyroxin (insgesamt 21 mg), so steigt die Mg-Konzentration im Serum auf 1,25 mMol. Bei Patienten mit Über- bzw. Unterfunktion der Schilddrüse waren keine Änderungen der Serum-Mg-Konzentration und des ultrafiltrierbaren Mg gegenüber gesunden Personen festzustellen (24, 25). Nach BISSEL (26) ist bei Hyperthyreosen der Anteil des proteingebundenen Mg erhöht, bei Hypothyreosen erniedrigt. AIKAWA (27) stellte bei Kaninchen, die zweimal 0,3 mg Thyroxin/kg erhalten hatten, eine Abnahme der Mg-Konzentration im Serum fest. Diese Diskrepanz ergibt sich wahrscheinlich aus den extremen Versuchsbedingungen, die man wählen muß, um bei Ratten eine Hyperthyreose zu erreichen.

Im Gewebe war bei hypothyreoiden Ratten der Mg-Gehalt in Leber und Muskulatur abgesunken. Nach der Zufuhr von Thyroxin war er umgekehrt in Leber und Muskulatur angestiegen (Tab. 2, 3). Hiermit in Übereinstimmung fand AIKAWA (27) bei Kaninchen nach Gaben von Propylthiouracil eine Abnahme der relativen Radioaktivität des Mg<sup>28</sup>  $\left( \frac{\text{cpm/g Gewebe}}{\text{cpm/ml Plasma}} \right)$  in der Leber und nach Injektion von Thyroxin einen Anstieg der relativen Radioaktivität in Haut, Appendix, Leber und Herzmuskel. Da das Mg in diesen Organen vollständig austauschbar ist, ist die relative Radioaktivität ein Maß für den Mg-Gehalt.

Über die Ursachen dieses Verhaltens läßt sich nichts sagen. Nach AIKAWA (27) soll die Mg-Bilanz durch Propylthiouracil oder Thyroxin nicht signifikant verändert sein. Da bei vergleichbar hohen Thyroxindosen eine Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung in der Leber erfolgt (28), müßte die Zunahme des Mg-Gehaltes

bei gleichzeitiger Abnahme des ATP-Gehaltes erfolgt sein.

### Nebenschilddrüse

Nach Entfernung der Epithelkörperchen nimmt die Mg-Konzentration bei Ratten im Serum von 0,99 auf 0,90 mMol ab (Tab. 1). Bei denselben Tieren war die Ca-Konzentration, die ein Maß für die Aktivität des Parathormons ist, von 2,50 auf 1,30 mMol abgesunken. Ein entsprechendes Verhalten konnte bei einem Patienten mit einem Adenom der Nebenschilddrüse beobachtet werden. Nach Entfernung des Tumors sank die stark erhöhte Ca-Konzentration auf den normalen Wert, die Mg-Konzentration nahm nur wenig ab (29). Umgekehrt bewirkt Injektion von Parathormon bei Hunden (100 E/10–15 kg) eine durchschnittliche Erhöhung der Serum-Mg-Konzentration um 0,25 mMol, die der Erhöhung der Ca-Konzentration um 15 Std. vorausgeht (30).

Die Abnahme der Mg-Konzentration im Serum nach Entfernen der Epithelkörperchen läßt sich mit einer erhöhten Mg-Ausscheidung erklären, die bei Fehlen des Parathormons resultiert, denn in Bilanzversuchen an parathyreoidektomierten Ratten fanden MACINTYRE und Mitarbeiter (31), daß Parathormon bei intravenöser Infusion einer Elektrolytlösung eine Retention von Mg bewirkt, die mit dem Logarithmus der zugeführten Hormonmenge ansteigt. Im Gegensatz hierzu wurde allerdings bei Patienten mit einer Überfunktion der Epithelkörperchen eine negative Mg-Bilanz beobachtet, die nach Entfernung des Adenoms positiv war (32, 33).

Im Gewebe nahm nach Parathyreoidektomie der Mg-Gehalt nur in der Leber ab. Die Abnahme in der Muskulatur ist nicht signifikant (Tab. 2, 3). Die Abnahme des Mg-Gehaltes in der Leber kann sekundär durch die Abnahme der Mg-Konzentration im Serum bedingt sein. Daß sich diese an der Leber und nicht am Muskel auswirkt, läßt sich wieder damit erklären, daß das Mg in der Leber wesentlich schneller als im Muskel umgesetzt wird.

### Sexualhormone

Nach Exstirpation beider Hoden stieg die Mg-Konzentration im Serum auf 1,18 mMol. Wurde normalen männlichen Ratten Testosteron injiziert, stieg die Mg-Konzentration im Serum auf 1,23 mMol und nach Injektion von Progesteron auf 1,11 mMol. Östradiol hatte keinen Einfluß auf die Serum-Mg-Konzentration (Tab. 1). Ähnliche Ergebnisse wurden an Patientinnen erzielt (34). Nach Kastration war die Mg-Konzentration im Serum erhöht. Zufuhr von Androgenen hatte den gleichen Effekt. Östrogene dagegen senkten die Mg-Konzentration im Serum.

Im Gewebe fanden wir nach Exstirpation beider Hoden keine signifikanten Änderungen des Mg-Gehaltes. Nach Testosterongaben war der Mg-Gehalt im Muskel erhöht und in der Leber unverändert. Unter Östradiol nahm der Mg-Gehalt der Muskulatur zu, während der Mg-Bestand in der Leber abnahm. Damit in Übereinstimmung wurde nach Injektion von Östradiol eine Zunahme des Mg-Gehaltes in der Uterusmuskulatur gefunden (35, 36). Progesteron schließlich hatte im Muskel keine Wirkung und führte in der Leber zu einer Abnahme des Mg-Gehaltes.

### Diskussion

Die Aufnahme von Mg in die Zelle war bei in vitro-Versuchen von der extrazellulären Konzentration von Na, K, Ca,  $\text{PO}_4$  und Glukose abhängig (4). Hormonell bedingte Konzentrationsänderungen dieser Substanzen könnten also auch sekundär die Aufnahme und Verteilung des Mg beeinflussen. Die in vitro erforderlichen Konzentrationsänderungen zur meßbaren Änderung der Mg-Aufnahme sind allerdings so groß, daß sie bei in vivo-Versuchen nicht erreicht werden.

Die durch Hormone bewirkten Änderungen des Mg-Gehaltes sind relativ gering. Sie betragen maximal etwa  $\pm 20\%$  und haben etwa die gleiche Größenordnung wie die durch Hormone hervorgerufenen Änderungen des zellulären K-Gehaltes. Es besteht jedoch kein streng paralleles Verhalten zwischen K und Mg, obgleich beide „zelluläre Ionen“ sind. So verhalten sich z. B. K und Mg bei verschiedenen Zuständen der Nebennierenrinde oder nach Thyroxingaben im Serum identisch, nicht aber im Gewebe. Umgekehrt änderten sich K und Mg nach Zufuhr von Sexualhormonen oder STH im Gewebe gleichsinnig, nicht aber im Serum. Dieses Verhalten ist verständlich, wenn man bedenkt, daß Hormone sehr komplexe, im einzelnen noch nicht überschaubare Wirkungen an der Zelle ausüben und K und Mg sich hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Chelate zu bilden, unterscheiden. Dieses nicht gleichsinnige Verhalten zwischen Mg und anderen Kationen spricht aber auch für eine unabhängige hormonelle Steuerung des Mg und gegen die Vermutung, daß Änderungen der Mg-Verteilung sekundär die Folge einer veränderten Na- oder K-Verteilung sind.

Der extrazelluläre Mg-Bestand, der nur etwa 1% des Gesamt-Mg-Bestandes beträgt (Tab. 2, 3), ändert sich mit der Größe der EZF, der Mg-Serum-Konzentration, der Serumprotein-Konzentration sowie mit dem Verhältnis von intravasalem: extravasalem Anteil der EZF (s. Methodik). Das Verhalten der EZF wurde an anderer Stelle behandelt (1, 2, 3). Auf ihre Besprechung wird daher verzichtet.

Angaben über den Zustand des Mg in der Zelle nach einer Änderung des intrazellulären Mg-Gehaltes sind nicht möglich. Mg ist in der Zelle größtenteils komplex gebunden und nur zu einem geringen Teil ionisiert (4). Beide Komponenten können sich wahrscheinlich unabhängig voneinander und vielleicht auch in entgegengesetzter Richtung ändern. Wenn z. B. der Gehalt an ATP oder anderen Mg-Komplexbildnern in der Zelle abnimmt, sinkt zwangsläufig auch die Konzentration des komplex gebundenen Mg. Da sich das ionisierte Mg in der Zelle in einem Puffer-Gleichgewicht befindet (4), wird beim Freisetzen von Mg-Ionen z. B. aus MgATP ein Teil des Mg von Komplexbildnern mit einer geringeren Mg-Komplexbildungskonstanten als ATP gebunden. Dennoch kann die Mg-Ionenkonzentration zunehmen, wenn nämlich bei konstant bleibendem Mg-Influx die freigesetzten Mg-Ionen nicht aus der Zelle permeieren.

Aussagen über das Verhalten des aktiven Transportes unter verschiedenen hormonellen Bedingungen, die bei

der Na-K-Verteilung möglich waren (1, 2, 3), sind beim Mg nicht möglich. Dazu müßte die Konzentration des ionisierten Mg unter den jeweiligen Bedingungen in der Zelle bekannt sein.

Da Mg zahlreiche Enzyme in der Zelle aktiviert, ist zu diskutieren, ob die beobachteten Änderungen des Mg-Gehaltes ursächlich an der Wirkung der verschiedenen Hormone beteiligt sind. Die Änderung des intrazellulären Gesamt-Mg-Bestandes sind zwar gering. Wie diese

Änderungen des Mg-Bestandes die einzelnen Zellfraktionen (wie Mitochondrien, Ribosomen, Cytoplasma usw.) betreffen, ist unbekannt. Wie sich unter hormonellen Einflüssen die Konzentrationen an Mg-Komplexbildnern in diesen Zellorganellen verhalten, ist ebenfalls unsicher. Deshalb lassen sich noch keine Aussagen über die Mg-Ionenkonzentrationen an den Wirkungsorten des Mg in der Zelle und über eine Beteiligung des Mg am Zustandekommen von Hormonwirkungen machen.

### Literatur

1. DULCE, H.-J., TH. GÜNTHER und E. SCHÜTTE, Clin. Chim. A. 3, 423 (1958). — 2. DULCE, H.-J. und TH. GÜNTHER, Arch. Exp. Path. Pharm. 238, 368 (1960). — 3. GÜNTHER, TH., H.-J. DULCE und E. SCHÜTTE, Arch. Exp. Path. Pharm. 239, 283 (1960). — 4. GÜNTHER, TH., Habilitationsschrift, Berlin (1965). — 5. WEICHSELBAUM, T. E., Amer. J. Chem. Path. 10, 49 (1956). — 6. ORANGE, M. und H. C. RHEIN, J. biol. Chem. 189, 379 (1951). — 7. WILLIS, W. J. und F. W. SUNDERMAN, J. biol. Chem. 197, 343 (1952). — 8. FISHER, R. A., Statistische Methoden für die Wissenschaft, Oliver and Boyd (1956). — 9. LI, C. H., H. PAPKOFF und C. W. JORDAN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 100, 44 (1959). — 10. HANNA, S., L. MCINTYRE, M. T. HARRISON und R. FRASER, Brit. Med. J. II, 12 (1961). — 11. NOALL, M. W., T. R. RIGGS, L. M. WALKER und H. N. CHRISTENSEN, Science 126, 1002 (1957). — 12. HENDERSON, M. J., H. E. MORGAN und C. R. PARK, J. biol. Chem. 236, 2157 (1961). — 13. DA VANZO, J. P., H. C. CROSSFIELD und W. W. SWINGLE, Endocrin. 63, 825 (1958). — 14. CONWAY, E. J. und D. HINGERTY, Biochem. J. 40, 561 (1946). — 15. HARROP, G. A., L. J. SOFFER, R. ELLSWORTH und J. H. TRESCHER, J. exp. Med. 58, 17 (1933). — 16. ZWEMER, R. L. und R. C. SULLIVAN, Endocrin. 18, 97 (1934). — 17. MADER, J. und L. T. ISERI, Amer. J. Med. 19, 976 (1955). — 18. HINGERTY, D., Biochem. J. 66, 429 (1957). — 19. HANNA, S. und I. MCINTYRE, Lancet. II, 348 (1960). — 20. ROSS, D. B. und A. D. CARE, Biochem. J. 82, 21 (1962). — 21. AIKAWA, J. K., E. L. RHOADES, D. R. HARMS und J. Z. REARDON, Amer. J. Physiol. 197, 99 (1959). — 22. KERPPOLA, W., Endocrin. 67, 252 (1960). — 23. STRICKLAND, E. H., Arch. Biochem. Biophys. 100, 110 (1963). — 24. COPE, L. C. und N. WOLFF, Biochem. J. 36, 413 (1942). — 25. KLEEMAN, C. R., F. H. EPSTEIN, D. KAY und E. TABORSKY, J. Clin. Endocr. Metabol. 18, 1111 (1958). — 26. BISSEL, G. W., Amer. J. Med. Sci. 210, 195 (1945) zit. n. SIMON, K. H., „Magnesium“ Stuttgart (1964) S. 29. — 27. AIKAWA, J. K., Proc. Soc. exp. Biol. Med. 104, 594 (1960). — 28. MARTIUS, C. und B. HESS, Biochem. Z. 326, 191 (1955). — 29. BARNES, B. A., S. M. KRANE und O. COPE, J. Clin. Endocr. Metabol. 17, 1407 (1957). — 30. GREENBERG, D. M., J. biol. Chem. 98, 765 (1932). — 31. MCINTYRE, I., Nature 198, 1058 (1963). — 32. BULGER, H. A. und Mitarbeiter, J. Clin. Invest. 12, 1135 (1932). — 33. BARNES, B. A. und Mitarbeiter, J. Clin. Endocr. Metabol. 17, 1407 (1957). — 34. VON NIDA, S., zit. n. SIMON, K. H., „Magnesium“ Stuttgart (1964) S. 20. — 35. WALAAS, O., Acta Physiol. Scand. 21, 27 (1950). — 36. BEST, F. A. und V. R. PICKLES, J. Endocrin. 32, 121 (1965).

Priv.-Doz. Dr. Th. Günther  
1 Berlin 33, Arnimallee 22

## Zur Bestimmung des Kreatinins bei Ketonämie

Von R. KATTERMANN

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen (Direktor: Prof. Dr. W. Creutzfeldt)

(Eingegangen am 2. Juni 1966)

Da die Ketonkörper Aceton und besonders Acetacetat eine positive JAFFE-Reaktion geben, kann bei Ketonämie ein erhöhter Serumkreatininhalt vorgetäuscht werden. Die Absorptionsspektren der mit Aceton, Acetacetat und Kreatinin gebildeten Farbstoffe sind praktisch identisch mit einem Maximum bei 490–500 m $\mu$ . Dagegen verhalten sich die molaren Extinktionskoeffizienten bei 546 m $\mu$  in der Farb-reaktion nach POPPER wie 1 : 10 : 150, nach BONSNES wie 1 : 20 : 1000. Kurzes Erhitzen eines Acetacetat-haltigen Serumüberstandes beseitigt den Ketonkörper-Störeffekt vollständig; damit ist es möglich, bei Patienten mit Ketoacidose zuverlässige Kreatininwerte zu erhalten.

Ketone bodies, especially acetoacetate, give a positive JAFFE reaction; in ketonaemia they may cause the determination of false "creatinine" values in the blood. The absorption spectra of the colours produced with acetone, acetoacetate and creatinine are practically identical, with maxima at 490–500 m $\mu$ . The molar extinction coefficients of the colour at 546 m $\mu$  however, are 1 : 10 : 150 according to POPPER, and 1 : 20 : 1000 according to BONSNES. The interference by ketone bodies in acetoacetate-containing serum supernatant is completely removed by brief heating; thus reliable creatinine values may be obtained for patients with ketoacidosis.

In der klinischen Routinediagnostik werden nicht selten Kreatininbestimmungen im Serum von Patienten veranlaßt, bei denen eine Erhöhung der Ketonkörper im Blut (z. B. *Praecoma* oder *Coma diabeticum*, Schwangerschaftsketonämie, ketonämisches Erbrechen bei Kindern) vorliegt. Da Acetacetat und Aceton mit alkalischem Pikrat eine Rotfärbung ergeben, resultieren in solchen

Fällen erhöhte „Kreatinin“-Werte, die evtl. Anlaß zu falschen differentialdiagnostischen Überlegungen sein können. Da in der Literatur keine näheren Angaben über diesen störenden Einfluß der Ketonkörper auf die Bestimmung des Kreatinins im Serum bzw. Urin vorlagen, andererseits in den letzten Jahren spezifische, enzymatische Bestimmungsmethoden ausgearbeitet wor-